

Vergleichende Untersuchungen
der Gonadotropinspiegel mit der
biologischen und radioimmunologischen
Methode

von

STEFFEN HERMANN LANIG
aus Finsterwalde

Aus der Klinik für Geburtshilfe und Frauenheilkunde
der Universität Erlangen - Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. K. G. Ober

VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNGEN DER GONADOTROPIN-
SPIEGEL MIT DER BIOLOGISCHEN UND RADIOIMMUNOLO-
GISCHEN METHODE

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
dem
Fachbereich Medizin
der
Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen - Nürnberg

Vorgelegt von
Steffen Hermann Lanig
aus Finsterwalde

Dekan: Prof. Dr. E. Rügheimer

Referent: Prof. Dr. K.-G. Ober

Tag der mündlichen Prüfung: 14. Juli 1975

In großer Dankbarkeit
meinen Eltern
gewidmet.



Im großen Dankbarkeit
meinen Eltern
gewidmet.



INHALTSVERZEICHNIS

KURZFASSUNG

THEMEN DER UNTERSUCHUNGSARBEITEN: 1. BAKTERIOLOGIE

I. Bakteriologische Bestimmungsmethoden

II. Bakteriologische Bestimmungsmethoden

III. Ergebnisse

STICHWORTER

VERGLEICHENDE

INHALTSVERZEICHNIS

INHALTSVERZEICHNIS

INHALTSVERZEICHNIS

EINLEITUNG

TECHNIK DER UNTERSUCHUNGSMETHODEN FÜR GONADOTROPINE

I. Biologische Bestimmungsmethoden

II. Radioimmunologische Bestimmungsmethoden

III. Ergebnisse

DISKUSSION

ZUSAMMENFASSUNG

LITERATURVERZEICHNIS

EINLEITUNG

ZONDEK und ASCHHEIM (19) sowie SMITH (17) konnten unabhängig voneinander 1926 nachweisen, daß von der Hypophyse ein gonadenstimulierendes Hormon produziert wird.

Im Anfang wurde auch das Choriongonadotropin (HCG) als ein hypophysäres Hormon angesehen. PHILIPP (12) entdeckte, daß die Produktionsstätte des HCG die Placenta war.

Die biologischen Bestimmungsmethode der Gonadotropine beruhte ursprünglich auf dem Nachweis des HCG. So war die Wachstumsstimulierung des Uterus von juvenilen Mäusen und der Ovarien von juvenilen Ratten die meßbare Einheit, Gonadotropine nachzuweisen.

Diese Methode ist mit sehr vielen Fehlermöglichkeiten behaftet, auf die noch später genauer eingegangen werden soll.

Trotz aller Nachteile, die die Methode geboten hat und auch heute noch bietet, ist sie wohl auch in der heutigen Zeit noch nicht vollständig zu vernachlässigen. Mit Sicherheit ist die biologische Wirksamkeit der ausgeschiedenen Gonadotropine mittels dieser Methode genau zu erkennen.

Mit dem Wissen um die Immunologie wurde auch eine neue Methode zur Bestimmung der Gonadotropine entwickelt. Zunächst aus dem Urin, später aus dem Serum, bzw. dem Plasma.

Die größte Schwierigkeit hierbei war jedoch, größere Mengen an Plasma bzw. Serum zu gewinnen, um eine Bestimmung durchführen zu können.

Die entscheidendste Wende in der gesamten Endokrinologie war die Entdeckung der Radioimmunologie durch YALOW und BERSON (18). Sie beschrieben als erste eine Methode zum radioimmunologischen Nachweis von Insulin im Serum.

1963 gelang erstmals MIDGLEY (19) und ODELL (11) der Nachweis von LH mittels radioimmunologischer Methoden, 1966 FRACHIMONT (3), 1967 MIDGLEY (10) und 1968 SAXENA et al (13) der Nachweis von FSH. Von dieser Entdeckung an kam eine Flut von neuen Ergebnissen, die sehr viele Vorteile für die Diagnostik und über das weitere Wissen um die normalen zyklischen Verhältnisse bei der Frau, wie auch über ihre Störungen, brachten. Wegen der Schwierigkeit dieser Bestimmungen und auch wegen des größeren apparativen Aufwandes, verbreitete sich diese Methode jedoch nicht so sehr, daß an jeder Klinik solche Bestimmungen durchgeführt werden konnten.

Wir wollten prüfen, welche Vorteile die biologische Methode gegenüber der radioimmunologischen Methode bringt und nahmen zu diesem Zwecke ab dem Jahre 1972, seitdem an der Universitäts-Frauenklinik in Erlangen die radioimmunologische Methode eingeführt ist, sowohl die biologischen als auch die radioimmunologischen Bestimmungen

der Gonadotropine vor. Gleichzeitig war es uns auch möglich, die Hypophyse mittels des synthetischen Releasing-Faktors von LH, der von SCHALLY (15) im Jahre 1971 synthetisiert wurde, zu stimulieren. Er wurde uns freundlicherweise von der Firma HOECHST zur Verfügung gestellt.

Technik der Untersuchungsmethoden für Gonadotropine

I. Biologische Bestimmungsmethode

Die biologische Gonadotropinbestimmung besteht aus zwei verschiedenen methodischen Schritten, einmal der Isolierung der gonadotropen Wirkstoffe aus dem Urin und dann der biologischen Testung der gewonnenen Extrakte.

a) Extraktionsmethode:

Das wichtigste Ziel bei der Extraktionsmethode ist, eine ausreichend hohe Konzentration des zu testenden Materials zu erzielen und die Toxizität so niedrig als möglich zu halten. Dabei soll die spezifische Reinigung, die darauf abzielt, alle evtl. störenden Hormone aus der Extraktion zu entfernen, besonders hoch sein. Es gibt die Kaolinacetatmethode nach ALBERT (1).

Bei dieser Methode werden die gonadotropen Wirkstoffe an Kaoline in saurem Bereich bei einem bestimmten pH absorbiert, anschließend mit Amoniumhydroxyd wieder eluiert und mit Aceton ausgefällt. Zu diesem Zweck muß ein vollständig gesammelter 24-Stunden- oder 48-Stunden-Urin zunächst mit Eisessig auf ein pH von 4,5 eingestellt werden. Es wird

Kaolin zugesetzt, gründlich gemischt und filtriert. Das Filtrat wird anschließend mit Eisessig und Wasser (pH 4,5) gewaschen. Die an Kaolin gebundenen Gonadotropine werden mit NH_4OH eluiert. Dann erfolgt die Präzipitation mit Aceton, hierauf Waschen mit Alkohol und Äther. Die Extraktion nimmt unter günstigen Bedingungen etwa 40 bis 50 Minuten in Anspruch.

oder die Kaolinacetonmethode nach LORAINÉ und BROWN (8).

Im Gegensatz zu der vorher erwähnten Methode wird hier der Urin mit HCL auf einen pH-Wert von 4 eingestellt, Kaolin zugegeben und geschüttelt. Dann wird zentrifugiert, auf ein pH von 5 eingestellt und mit Aceton versetzt. Das dabei sich bildende Präzipitat wird zentrifugiert, mit Alkohol und Äther gewaschen und getrocknet.

b) Biologische Testung der gonadotropen Aktivität:

Hierbei wird die Stimulierung einzelner Organe (Uterus der Maus oder Ovarien der Ratte) durch die Verabreichung der Extrakte gemessen, deren Gewinnung oben beschrieben wurde. Wir verwendeten hier den Mausuterustest. Bei dieser Bestimmung wird das Uterusgewicht von infantilen weiblichen Mäusen nach Verabreichung der Extrakte

gemessen. Die Art und Größe der Mäuse ist standardisiert. Die Extrakte werden nach Lösung in Brovat oder Kochsalz in verschiedenen Dosen den Tieren gruppenweise in einem bestimmten Zeitraum verabfolgt. Die subcutanen Injektionen werden wiederholt. Ein bis vier Tage nach der letzten Injektion werden die Tiere getötet und der Uterus exakt präpariert und gewogen. Auf Grund des mittleren Uterusgewichtes jeder Gruppe wird dann an Hand einer Standardkurve umgerechnet. Man muß für Routinezwecke mindestens zwei bis drei Dosen verwenden, da die Konzentrationen vorher nicht bekannt sind. (6, 7, 14)

c) Berechnung der biologischen Ergebnisse:

Die Ergebnisse der biologischen Verfahren können nur ausgewertet werden, wenn bei jeder Versuchsanordnung Standardgruppen mitgeführt werden. Es wird immer eine unbehandelte Gruppe, die aus drei bis sechs Tieren besteht, als Kontrolle dienen. Ein Standardpräparat wird zwei bzw. drei weiteren Gruppen mit verschiedenen Dosen injiziert. Hieraus resultiert die Dosis-Wirkungskurve. Sie sollte für den gewählten Bereich möglichst geradlinig verlaufen. Die Dosierung ist abhängig von der Empfindlichkeit des Tierstammes. Die unbekannten Extrakte werden ebenfalls in zwei bis vier verschiedene Dosierungen injiziert, woraus dann die

Dosis-Wirkungskurve resultiert. Im Idealfall läuft sie parallel zur Standardkurve.

Die Auswertung der erhaltenen Ergebnisse schließt eine Reihe von statistischen Problemen ein. Es müssen neben der Berechnung des gesuchten Resultates, der Standardabweichung, der Präzision und der entsprechenden Vertrauensgrenzen auch die Gültigkeitskriterien, wie die Regression, Linearität, Parallelität der Wirkungskurven sowie die gleiche Wirkung zum Standard- und Testpräparat geprüft werden. Außerdem müssen zur Berechnung bei allen Testsystemen die allgemeinen Zuverlässigkeitskriterien, die Richtigkeit, Präzision, Spezifität und Empfindlichkeit einer Versuchstechnik bekannt sein. (2)

II. Die radioimmunologische Bestimmungsmethode

Bei der radioimmunologischen Bestimmungsmethode handelt es sich hauptsächlich um eine kompetitive Bindung des zu bestimmenden und des gleichen radioaktiv markierten reinen Hormons an ein spezifisches Antiserum. Zunächst wird ein Antiserum bei Kaninchen oder Meerschweinchen gewonnen, das durch Einspritzung hochgereinigter Hormone gebildet wird. Wenn die Antikörperkonzentration bei den sensibilisierten Tieren hoch genug ist, werden die Tiere ausgeblutet und das Serum

als Antikörper-Serum verwendet.

Als nächster Schritt wird ein hochgereinigtes Hormon radioaktiv markiert, das mit Jod 131 oder Jod 125 geschieht.

Ist das Hormon jodiert, empfiehlt sich noch eine Reinigung mittels Gel-Filtration oder Sephadex-Chromatographie. Das markierte Hormon wird dann mit dem zu bestimmenden Serum oder Urin und dem vorher gewonnenen Antikörper inkubiert.

Als nächster Schritt wird das freie Hormon von dem Antikörper-gebundenen abgetrennt. Man verwendet hauptsächlich Chromatoelektrophorese oder Doppelantikörper-Präzipitation. Bei der letzteren wird das noch freie Hormon durch eine zweite Antikörper-Reaktion vom gebundenen abgetrennt. Anschließend wird dann die zurückgebliebene Radioaktivität in einem Gammastrahlenmeßgerät ermittelt. Die so erhaltenen Werte werden mittels einer Standardkurve, die durch Inkubation vorher determinierter Hormonmengen gewonnen wird, umgerechnet und einem Komputers eingegeben. Dadurch erhält man in kürzester Zeit die Ergebnisse. (4)

Vor- und Nachteile der biologischen und radiologischen Methode

Bei der biologischen Methode werden größere Urinmengen benötigt, um eine genügend hohe Konzentration des Hormons zu erhalten. Eine Fehlermöglichkeit liegt in dem Sammeln von Urin über 48 Stunden.

Bei der Extraktion ist von Wichtigkeit, daß eine gute Konzentration des gonadotropen Materials erreicht wird.

Man muß auch versuchen, die toxischen Störfaktoren zu eliminieren. Nicht selten kommt es vor, daß Versuchstiere durch die Toxizität des eingespritzten Materials zugrunde gehen. Vereinzelt ist die Durchführung des Versuches wegen der hohen Toxizität nicht möglich.

Der Mausunterustest ist einfach und empfindlich. Die größten Schwierigkeiten bietet die Wahl des Testbereiches, da die Dosiskurve sehr kurz und steil ist, so daß brauchbare Bereiche häufig über- oder unterschritten werden. Aus diesem Grunde muß man mindestens zwei bis drei Dosen verwenden. Dadurch steigt die Zahl der Versuchstiere erheblich an.

Die radioimmunologische Methode benötigt für ihre Reaktionen hochgereinigte Hormone, nicht nur zur Herstellung von Antiseren, sondern auch zur radioaktiven Markierung. Beide Verfahren tragen erhebliche Schwierigkeiten in sich. Die Spezifität der Methode ist gut,

wenn man von der Kreuzreaktion zwischen HCG und LH absieht.

Der technische Aufwand ist angesichts der Möglichkeit, schon markierte Hormone und vorgefertigte Antikörper zu erhalten, gegenüber den anderen Methoden sehr viel geringer und einfacher. Während bei einer LH-Bestimmung mit den üblichen biologischen Testverfahren mindestens 100 ml Plasma benötigt werden, reichen für den gleichen Zweck bei der radioimmunologischen Methode wenige 100 ^μl völlig aus. Außerdem können Plasma oder Serum verwendet werden.

Zu erwähnen ist, daß bei dieser Methode ein Gerät zur Messung der Gammastrahlen nötig ist, was einen nicht unerheblichen Kostenaufwand bedeutet.

Extraktion hypophysärer Gonadotropine
aus Urin nach ALBERT

Ansäuern des 24-h-Urins mit Eisessig auf pH 4,5 und
Zusatz von 20 g Kaolin

↓
3 min. mit Magnetrührer mischen

↓
Abfiltrieren des Urins in automatischem
Schnellfilter (Spincraft) und Waschen des
Filterkuchens mit 2 l Wasser pH 4,5

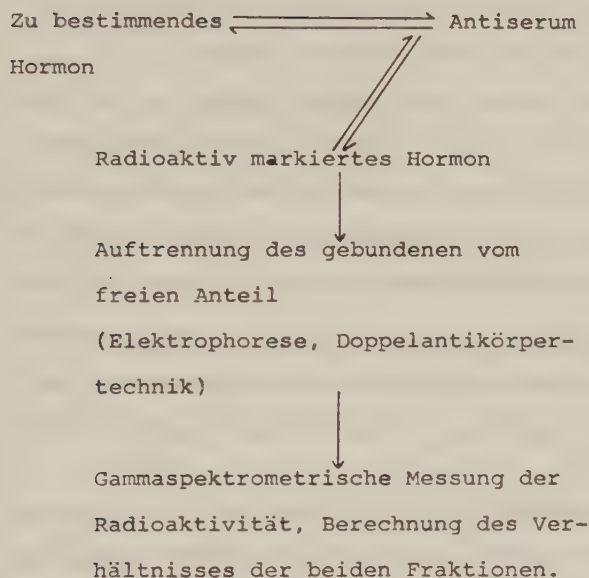
↓
Elution der Gonadotropine mit 100 ml 2_M NH₄OH, das
zweimal durchgepreßt wird.

↓
Nachspülen mit 30 ml Aqua dest.

↓
Adjustieren mit Eisessig auf pH 5,5 und Präzipitation
mit 2 Volumen Aceton

↓
Nach 30 Min. Stehen bei 4° Abzentrifugieren und Trocknen
des Präzitatates.

Prinzip der radioimmunologischen Bestimmung
von FSH und LH



Gebräuchliche biologische Gonadotropinbestimmungsmethoden

Test	Spezifität	Endpunkt	Testdauer	Empfindlichkeit	Präzision
Maus-Uterus-Test	TGA	Uterusgewicht infanter Mäuse	3 h	0,03 mg-Äq. 2. TRP	0,06 - 0,15

Wir untersuchten 28 Frauen, die die Universitäts-Frauenklinik Erlangen-Nürnberg wegen sekundärer Amenorrhoe, Oligomenorrhoe oder anderer gynäkologisch-endokrinologischer Erkrankungen aufgesucht hatten. Bei diesen Patientinnen wurde über 3 Tage lang Urin gesammelt und dann zur Bestimmung der Gonadotropine mittels der biologischen Methode gegeben.

Nach Abschluß dieser Untersuchung nahmen wir den Patientinnen Blut zur radioimmunologischen Bestimmung der Gonadotropine ab. Seitdem uns der synthetische Releasing-Faktor zur Verfügung steht, untersuchten wir bei diesen Frauen die Reaktion der Hypophyse auf RH-LH. Dazu wurde diesen Frauen Blut 10 min. und direkt vor der Injektion des Releasing-Faktors abgenommen. Anschließend 30, 45, 60, 90 und 120 min. nach Injektion.

Bei einer gesunden, geschlechtsreifen Frau zeigt sich dann in Abhängigkeit der Dosis eine Reaktion der Hypophyse, die ein Ansteigen von FSH und LH erkennen läßt.

Es ist möglich, sowohl den Urin gekühlt über längere Zeit zu halten, ohne daß dabei die Aussagekraft über die Hormonmenge an Gültigkeit verliert, als auch die Seren einzufrieren und zu irgendeiner beliebigen Zeit zu bestimmen. Bekannt ist jedoch, daß nach mehrmaligem Auftauen die meßbare Hormonmenge abnimmt.

Die Untersuchungen wurden unabhängig von einander in verschiedenen Laboratorien durchgeführt, so daß erst nach Abschluß der Untersuchungen ein Vergleich möglich war.

ER G E B N I S S E
=====

Die so gefundenen Hormonwerte nach der biologischen und radioimmunologischen Bestimmung wurden miteinander verglichen als auch die jeweils damit gewonnenen Aussagen.

Der Korrelationsfaktor der Ergebnisse ist 0,009. Die Korrelation ergibt fast eine Parallele zur X-Achse. Damit ist eine direkte Korrelation der Einzelwerte zwischen der biologischen und der radioimmunologischen Methode nicht möglich.

Vergleicht man nun die Aussagekraft der Einzelwerte miteinander, so findet man in

11 Fällen eine Übereinstimmung (siehe Tab. 2).

Differente Aussagen dagegen findet man in 17 Fällen (siehe Tab. 3). Davon waren:

2 Werte bei der radioimmunologischen Methode normogonadotrop und bei der biologischen Bestimmung hypogonadotrop.

5 Werte bei der radioimmunologischen Methode normogonadotrop und bei der biologischen Bestimmung hypergonadotrop.

2 Werte bei der radioimmunologischen Methode hypogonadotrop und bei der biologischen Bestimmung normogonadotrop.

4 Werte bei der radioimmunologischen Methode hypogonadotrop und bei der biologischen Bestimmung hypergonadotrop.

Kein Wert war bei der radioimmunologischen Methode hypergonadotrop und bei der biologischen Bestimmung hypogonadotrop.

2 Werte waren bei der radioimmunologischen Methode hypergonadotrop und bei der biologischen Methode normogonadotrop.

2 biologische Bestimmungen konnten nicht verwertet werden, da die Versuchstiere zugrunde gingen.

Sicherlich kann man die biologische Bestimmungsmethode mit der radioimmunologischen Methode nicht direkt vergleichen, da man bei der ersteren Methode einen Durchschnittswert erhält, bestimmt aus dem Sammelurin von 3 x 24 Stunden, während die radioimmunologische Methode einen Augenblickswert darstellt. Bekanntlich sind ja vorübergehend Erhöhungen des Gonadotropinspiegels zu finden (zum Beispiel Ovulation).

So ist es sinnvoll, mindestens an 2 verschiedenen Tagen die radioimmunologische Bestimmung der Gonadotropine durchzuführen.

In unseren Fällen erhielten wir bei wiederholten Bestimmungen annähernd gleiche Werte, so daß man eine Aussage machen kann.

Seitdem SCHALLY (16) den Releasing-Faktor entdeckt hatte und wir damit die Möglichkeit besitzen, die Hypophyse zu stimulieren und ihre Reaktion zu testen, führten wir an der Universitäts-Frauenklinik bei jeder

gynäkologisch-endokrinologischen Erkrankung zusätzlich diesen Test durch. (5)

Dadurch können wir mögliche Störungen in der Hypophyse oder in dem FEED-BACK-Mechanismus lokalisieren und daraus therapeutische Konsequenzen ziehen.

Wir haben 19 Frauen mit $25 \mu g$ LH-RH stimuliert und die LH- und FSH-Werte in der vorhin beschriebenen Methode bestimmt. Wenn man die gewonnen Werte in ein Koordinatensystem einträgt, erhält man charakteristische Kurvenverläufe, die schematisch in Figur 1 bis 3 gezeigt werden.

Figur 1 zeigt den hypogonadotropen Verlauf, der auf Stimulation keine Erhöhung des LH-Wertes zeigt. Die Gonadotropine sind nicht stimulierbar, die Ursache liegt in der Hypophyse. Als Therapie kann man der Patientin Gonadotropine zuführen. Bei unserem Kollektiv fanden wir 7 Patientinnen, die dem nicht stimulierbaren Typus zuzusprechen waren.

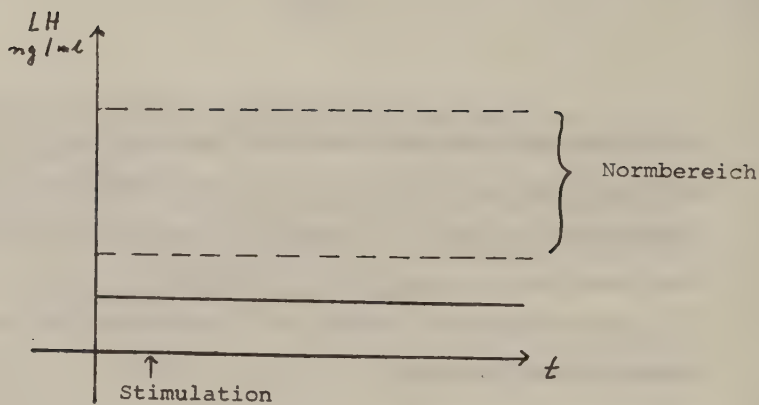
In Figur 2 wird der normo- oder hypogonadotrope Typ dargestellt, der auf die Stimulierung mit LH-RH mit einer deutlichen Erhöhung des LH-Wertes reagiert. Bei diesem Typ liegt der Stop im Hypothalamus und man kann diese Patientinnen mit dem Releasing-Faktor von LH-RH behandeln. Wir fanden bei 11 Patientinnen diesen Verlauf vor.

Der 3. Typ zeigt den hypergonadotropen Verlauf, der auf Stimulation mit noch weiter über der Norm liegenden LH-Werten reagiert (siehe Figur 3). Hier gibt erst eine

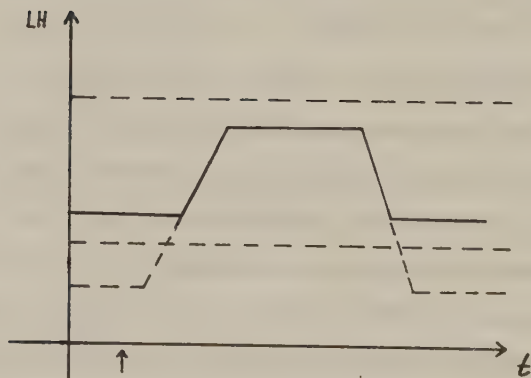
Ovarialbiopsie weiteren Aufschluß darüber, ob eine vorzeitige Menopause oder eine sonstige Schädigung in der Peripherie vorliegt. Eine mögliche Therapie richtet sich dann nach dem histologischen Ergebnis.

In unserem Kollektiv fanden wir 1 Patientin, bei der dieser Verlauf zutraf.

Figur 1:



Figur 2:



Figur 3:

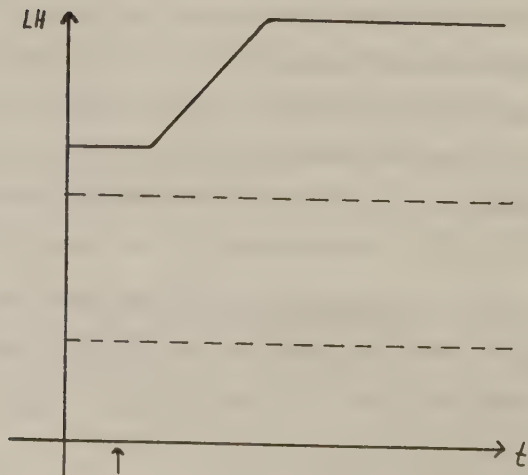


Tabelle 1:

VP	Biol. Radioimm. (LH)	Belastung mit 25 ug LH-RH							Typ
		- 10	0	+ 30	+ 45	+ 60	+ 90	+ 120	
1 Fi Ch	0,7		2,2						
2 Le E	1,05		1,5						
3 He V	2,8		24						
4 Ro J	4,2		14						
5 Bu E	4,5		2,7						
6 Au Ch	6,7		1,1						
7 Bo A	11,0		19						
8 Tu B	11,0		19,8						
9 Gr A	22-45		3,4						
10 Lie H	1,5	2,8	2,2	4,5	3,25	3,0	3,7	2,2	
11 Br E1	2,1	0,5	0,75	1,5	1,5	1,5	0,85	0,4	
12 Ju W	5,2	0,2	0,2	1,6	1,85	1,4	1,0	1,0	
13 Gr E	6,31	2,5	1,8	3,3	3,4	3,4	2,2	1,8	I
14 Ku P	3,7	1,1	1,0	3,3	3,75	3,7	2,5	2,2	
15 Ka Rö	nicht verw.	4,5	3,3	5,7	5,5	5,8	3,9	3,5	
16 Pl H	nicht verw.	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	

VP	Blol.	Radioimm.(LH)	Belastung mit 25 µg LH-RH							Typ
			- 10	0	+ 30	+ 45	+ 60	+ 90	+ 120	
17 Po H	0,28	1,5	1,5	1,4	6,4	5,2	4,6	2,5	2,6	II
18 Mu G	0,51	0,5	0,5	0,4	6,8	6,0	5,8	3,2	3,2	
19 Oe Br	1,8	2,5	2,8	2,2	4,5	3,25	3,0	3,7	2,2	
20 Pe J	2,4	3,75	3,75	3,75	14,3	12,85	12,85	7,5	6,0	
21 Hu Ch	2,4	2,5	2,9	2,2	8,2	7,9	7,2	6,3	5,2	
22 Ma M	3,5	3,6	3,4	3,8	19,8	24	13,9	13,75	12,0	
23 HÖ CH	4,0	1,5	1,75	1,45	12,4	10,5	10,0	9,35	9,0	
24 Ch U	5,2	3,8	3,8	3,6	30	27,8	24	18,6	15,3	
25 Ho B	13,0	1,8	1,8	1,8	9,75	9,3	7,8	6,3		
26 Och	15,0	3,0	4,5	2,5	21	22,8	25,8	24	19,8	
27 Lö K	15,0	2,0	2,0	1,85	8,25	7,8	7,9	5,2	4,5	III
28 E G	5,4	15,0	14,5	15,9	22	19,8	31,7			

Tabelle 2:

Übereinstimmung

	Biol. Methode u. Radioimm. Methode
hypogonadotrop	3
normogonadotrop	5
hypergonadotrop	3
Gesamt	11

Tabelle 3

Konfiguration der Diskrepanz

Biol. Methode			Radioimm. Methode		
hypog.	normog.	hyperg.	hypog.	normog.	hyperg.
2				2	
		5		5	
	2		2		
		4	4		
-					-
	2				2

n = 15

Tabelle 4

Typ	n (Zahl der Fälle)
hypogonadotroper Verlauf, nicht stimulierbar	7
hypo- oder normogonadotroper Verlauf, stimulierbar	11
hypergonadotroper Verlauf stimulierbar	1
Gesamt	19

DISKUSSION
=====

Bei den vorliegenden Untersuchungen fanden wir nach der biologischen und radioimmunologischen Bestimmungsmethode in 11 Fällen eine Übereinstimmung der Ergebnisse. Bei den übrigen 17 Fällen war keine Übereinstimmung festzustellen.

Es ist also eindeutig, daß eine der beiden Methoden in ihrer Aussagekraft nicht voll zu akzeptieren ist.

Bei der biologischen Methode ist eine größere Fehlermöglichkeit gegeben. Das Sammeln des 24-Stundenurins bereitet oft Schwierigkeiten, bei der Extraktion gelingt es nicht immer, eine ausreichend hohe Konzentration des gonadotropen Materials zu erreichen. Oft gehen die Versuchstiere durch eine zu hohe Toxizität zugrunde oder beeinflussen die Ergebnisse.

Diese Problematik tritt bei der radioimmunologischen Methode nicht auf. Man muß also die Fehlerquellen eher in der biologischen Bestimmungsmethode suchen. Der Vorteil der biologischen Methode liegt in der Aussagekraft über die biologische Wirksamkeit der Gonadotropine. Bei der radioimmunologischen Methode kann dies nicht angenommen werden.

Die radioimmunologische Methode ist weniger arbeitsintensiv und ermöglicht auch noch die Bestimmung geringster Mengen von Gonadotropinen zu jedem beliebigen Zeitpunkt.

Die Möglichkeit, die Hypophyse mit LH-RH zu stimulieren, eröffnet mit Hilfe der radioimmunologischen Methode ein neues Gebiet. Bei Frauen mit gynäkologisch-endokrinologischen Erkrankungen läßt sich mit Hilfe dieses leicht

durchzuführenden Testes meist die Ursache der Erkrankung feststellen und eine entsprechende Therapie einleiten.

Es wurden drei Typen von Störungen festgestellt. Typ 1 ist der hypogonadotrope Verlauf, der keine Reaktion auf Stimulation mit LH-RH zeigt. Man therapiert hier mit Gonadotropinen. Im 2. Typ sieht man den hypo- oder normogonadotropen Verlauf, der auf Stimulation reagiert. Hier kann die Therapie mit LH-RH erfolgen.

In den hypergonadotropen Verläufen, die auf Stimulation reagieren, kann man erst nach einer Ovarialbiopsie eventuelle therapeutische Konsequenzen ziehen.

Durch die viel größere Aussagekraft der radioimmunologischen Methode, besonders in Verbindung mit der Hypophysenstimulation durch LH-RH, ist die radioimmunologische Methode der biologischen Methode überlegen.

Z U S A M M E N F A S S U N G
=====

Zusammenfassend können wir aus dieser Untersuchung ableiten, daß die biologische Methode einen Aufschluß über die biologisch wirksamen Gonadotropinkörper bei der Frau widerspiegelt, jedoch während eines Zeitraumes von 24 Stunden, wohingegen die radioimmunologische Methode die Möglichkeit bietet, aktuelle Werte zu finden und somit auch plötzliche Veränderungen (Stimulation). Die Genauigkeit der radioimmunologischen Bestimmung ist wesentlich höher als die der biologischen Methode.

Das auszuwertende Material ist bei der biologischen Methode mit einer weitaus größeren Fehlermöglichkeit behaftet (Sammeln des Urins, Toxizität, Extraktion, Finden der richtigen Konzentration) als bei der radioimmunologischen Methode.

Seitdem man die Möglichkeit hat, die Hypophyse mit dem synthetischen Releasing-Faktor von LH-RH zu stimulieren, eröffnet sich für die radioimmunologische Bestimmungsmethode ein weiteres Gebiet. Man kann damit nicht nur feststellen, wo der mögliche Fehler im Steuerungssystem liegt, man kann auch die weitere Therapie festlegen.

LITERATURVERZEICHNIS

1. ALBERT, A.: Procedure for routine clinical determination of urinary gonadotropin.
Proc. Mayo Clin. 30, 552 (1955).
2. BORTH, R.
E. DICZFALUZY
H. D. HEINRICHS: Grundlagen der statistischen Auswertung biologischer Bestimmungen.
Arch. Gynäk. 188, 497 (1957).
3. FRANCHIMONT, P.: Dosage radioimmunologique de l'hormon folliculostimulante et lutéinisante.
Proc. int. Soc. Endocrin. (Jan. 1966).
4. FRANCHIMONT, P.,
H. BREUER,
D. HAMEL,
H. L. KRÜSKEMPER: Methoden der Hormonbestimmung.
G. Thieme Verlag Stuttgart, (1975).
5. FRANCHIMONT, P.,
H. BECKER,
CH. ERNOULD,
CH. THYS,
A. DEMOULIN,
P. BOURGUIGNON,
J. J. LEGROS,
J. C. VALCKE: Action de l'hormone hypothalamique libérant l'hormone lutéinisante (LH-RH) sur les gonadotropines chez le sujet normal.
Annales d'Endocrinologie, Paris, 34, 5, 477 (1973).
6. KELLER, F. J.: Die Bestimmung hypophysärer Gonadotropine in Urin.
Gynaekologia 156, 380 (1963).
7. KLINEFELTER, H. F.,
F. ALBRIGHT,
G. C. GRISWOLD: Experience with a quantitative test for a normal and decreased amounts of follicle-stimulating hormone in the urine in endocrinological diagnosis.
J. clin. Endocrin. 3, 529 (1943).
8. LORAIN, J. A.,
J. B. BROWN: Some observations on the estimation of gonadotropins in human urine.
Acta endocrin., Kbh. 17, 250 (1954).

9. MIDGLEY, R. A.:
Radioimmunoassay: A method for human chorionic gonadotropin and human luteinizing hormone. *Endocrinology* 79, 10 (1966).
10. MIDGLEY, R. A.:
Radioimmunoassay for human follicle-stimulating hormone. *J. clin. Endocrin.* 27, 295 (1967).
11. ODELL, W. D.,
G. T. ROSS,
P. C. RAYFORD:
Radioimmunoassay for luteinizing hormone in human plasma or serum. *Phys. studies. J. clin. Invest.* 46, 248 (1963).
- 12.. PHILIPP, E.:
Die Hormone der Plazenta in Seitz-Amreich, *Biologie u. Pathologie d. Weibes*, Bd. 1, Urban u. Schwarzenberg, Berlin u. Wien 1945.
13. SAXENA, B. B.,
H. DENVER,
H. M. GANDY,
R. E. PETERSEN:
Radioimmunoassay of human follicle-stimulating and luteinizing hormones in plasma. *J. clin. Endocrin.* 28, 519 (1968).
14. ROSEMBERG, E.,
F. SMITH,
R. J. DORFMAN:
A precise method for the bioassay of urinary gonadotropin with a suggestion for a stable, easily available reference standard. *Endocrinology* 61, 337 (1957).
15. SCHALLY, A. V.,
A. ARIMURA,
C. Y. BOWERS,
J. WAKABAYASHI,
A. J. KASTIN,
T. W. REDDING,
J. C. MITTLER,
R. M. G. NAIR,
P. PIZZOLATO,
A. J. SEGAL:
Purification of hypothalamic releasing hormone of human origin. *J. clin. Endocrin.* 31, 291 (1970).
16. SCHALLY, A. V.,
A. ARIMURA,
A. J. KASTIN,
H. MATSON,
Y. BATA,
T.W. REDDING,
R. M. G. NAIR,
L. DEBELJUK,
W. F. WHITE:
Gonadotropin-releasing hormone: One polypeptide regulates secretion of luteinizing and follicle stimulating hormones. *Science* 173, 1036 (1971).

17. SMITH, P. E.:
Hastening development of female genital system by daily homoplastic pituitary transplants. Proc. Soc. exp. Biol. 24, 131 (1926).
18. YALOW, R. S.,
S. A. BERSON:
Immunoassay of endogenous plasma insulin in men. J. clin. Invest. 39, 1157 (1960).
19. ZONDEK, B.,
S. ASCHHEIM:
Schwangerschaftsdiagnose aus dem Harn. Klin. W.Schr. 7, 8 (1928).

EHRENWÖRTLICHE ERKLÄRUNG

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die der Medizinischen Fakultät Erlangen zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel "Vergleichende Untersuchungen der Gonadotropin-spiegel mit der biologischen und radioimmunologischen Methode" in der Universitäts-Frauenklinik unter Leitung von Prof. Dr. K. G. Ober und Unterstützung durch Herrn Dr. H. Becker, wissenschaftlicher Assistent von Herrn Prof. Dr. K. G. Ober, ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung keine anderen als die im Schriftenverzeichnis angeführten Hilfsmittel benützt habe.

Ich habe bisher an keiner in- und ausländischen Medizinischen Fakultät um Zulassung zur Promotion nachgesucht noch die vorliegende oder eine ähnliche Arbeit als Dissertation vorgelegt.
Vorliegende Arbeit wurde bisher nicht veröffentlicht.

D A N K E S W O R T

=====

Herrn Prof. Dr. K. G. Ober bin ich für die Überlassung des Themas und die Unterstützung bei der Durchführung der Dissertation zu großem Dank verpflichtet.

Ganz besonders danken möchte ich Herrn Dr. H. Becker, der mir als wissenschaftlicher Assistent von Herrn Prof. Dr. K. G. Ober zu jeder Zeit mit Rat und Tat hilfreich zur Seite stand. In selbstloser Weise hat er sich um das Gelingen der Doktorarbeit bemüht und ist mir in meinen Wünschen freundlich entgegen gekommen.

LEBENS LAUF

=====

Ich, Steffen L a n i g, wurde am 20.9.43 als Sohn des Bankkaufmannes Josef Lanig und seiner Ehefrau Hildegard, geb. Braun, in Finsterwalde geboren. 1950 bis 1955 besuchte ich die Volksschule in Bad Mergentheim. Nach bestandener Aufnahmeprüfung wechselte ich in das Deutschorden-Gymnasium Bad Mergentheim über. Im Frühjahr 1965 legte ich an dieser Schule das Zeugnis der Reife ab. Im Sommersemester 1965 immatrikulierte ich mich an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg als Student der Medizin. Im Sommersemester 1971 absolvierte ich die ärztliche Prüfung. Meine chirurgische Medizinal-Assistentenzeit absolvierte ich im Kreiskrankenhaus Bad Mergentheim, meine Medizinische Medizinal-Assistentenzeit im St. Rochus-Stift Bad Mergentheim. 3 Monate war ich als Medizinal-Assistent an der Staatl. Frauenklinik in Bamberg tätig. Ab 1. Januar 1973 bin ich als Assistenzarzt an der Universitäts-Frauenklinik Erlangen-Nürnberg tätig.

